

## 研究快报

## 固氮酶底物络合活化模式的量子化学计算\*

刘爱民 周泰锦 张鸿图 万惠霖 蔡启瑞\*\*

(厦门大学化学系、物理化学研究所, 厦门 361005)

**摘要** 用改进的 EHMO 方法对分子氮和乙炔作为固氮酶底物时的络合活化模式进行了总能量及电荷分布的量化近似计算. 结果表明固氮酶底物活性中心 (FeMo-co) 对于分子氮和其它底物在络合活化时是区别对待的.

**关键词** 固氮酶, 铁钼辅基, EHMO 方法, 配位

固氮酶是一种多异核金属原子簇的复合金属酶. 有关该酶底物活性中心 FeMo-辅基化学结构的研究, 是固氮酶催化作用及其化学模拟的焦点问题. 最近, Rees 和 Bolin 等分别独立发表了 *Av* 菌和 *Cp* 菌中固氮酶 MoFe-蛋白 0.22nm 分辨率的晶体结构分析结果<sup>[1-4]</sup>. 初步揭示了 M-簇 (体外时称 FeMo-co) 和 P-簇的结构图像, 使固氮酶活性中心结构的研究有了重大突破.

一直被认为是底物活性中心的 M-簇果如十多年前人们预料到的是立方烷型簇合物. 由两个缺口 (或活口含 H) 立方烷,  $Fe_4S_3$  和  $MoFe_3S_3$ , 靠两个硫桥 ( $\mu_2-S$ )<sub>2</sub> 和一个 Y 配体 ( $\mu_2-S$  或  $\mu_2-O$ ,  $\mu_2-NH$ ) 桥联形成具有近似  $C_{3v}$  对称的笼状原子簇结构, Mo 原子不在中心而处在一端的角落位置上 (如图 1). 对 Rees 的晶体结构分析中尚未能确定的 Y 配体归属问题的量子化学研究的初步结果<sup>[5]</sup>表明, 未知配体 Y 为 O= 或 HN= 的可能性最大<sup>[2,5,6]</sup>. 同时量子化学计算结果结合配位化学和络合催化原理揭示了 Y (O) 位底物活化过程中, 邻位加氢后即可作为活性中心吞吐底物、产物的活窗口的可能作用方式.

应用群分解 EHMO 程序 EHG-I<sup>[7]</sup> 的改进版 (用 NDP Fortran-386 重新编译, 无任何

对称性时即可算 260 维, 在 MS-DOS 6, Intel 80386DX/33CPU + Intel 80387DX25, 4MB RAM 的软硬件环境下运行; 轨道指数及能量参数取自 ICON8 程序参数. 模型的结构参数取自 EXAFS 和 X 射线衍射数据<sup>[8,9]</sup>), 对分子氮和乙炔作为固氮酶底物的络合活化模式进行了总能量及电荷分布的量化近似计算. 结果表明固氮酶的活性中心 (FeMo-co) 对于分子氮和其它底物在络合活化时是区别对待的.

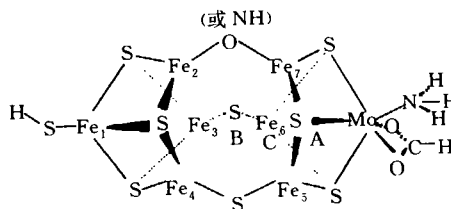


图 1 分子氮与 FeMo-辅基平躺式络合的  
量化计算模型

$Fe_1-Mo=0.75nm$ ,  $Fe_2-Fe_7=0.25nm$ ,  
 $Fe_2-Fe_3=0.38nm$ ,  $Fe_4-S=0.23nm$ .

### a. 分子氮的络合活化模式

以分子氮在 M-簇内部靠近 Mo 原子并与

\* 国家基础性研究重大关键项目 (攀登计划) 子课题及固体表面物理化学国家重点实验室开放课题基金资助.

\*\* 厦门大学化学系 89 级雷德斌同学参加了本工作.

收稿日期: 1993-10-19, 修回日期: 1993-12-09

之成键的络合方式称平躺式 A, 按图 1 所示的最佳几何位置平躺式络合定义为平躺式 B, 介于两者之间的状态称平躺式 C. 图 1 中由 4 个 S (或 3 个 S 和一个 Y 配体) 桥联的 Fe 构成了 0.25nm×0.38nm 的三个窗口. 以 N<sub>2</sub> 分子通过 Fe<sub>3</sub>, Fe<sub>4</sub>, Fe<sub>5</sub> 和 Fe<sub>6</sub> 窗口指向 Y(O) 的插入方式定义为直插 A, 直对 S 的另外两种情形分别称为直插式 B 和直插式 C. 与络合方式有关的能量计算结果列于表 1.

平躺式络合的三种情形中, N<sub>2</sub> 靠近 Mo 原子(平躺 A) 并为之成键和远离 Mo 原子而处于模型中点时(B) 在能量和电荷分布上都比处于中间态的络合方式(C) 有利. 当 N<sub>2</sub> 与 Mo 原子成键时, 能量值几乎与平躺式(B) 相近, 表明 N≡N 与 Mo 以单端基(络合到 Mo<sup>IV</sup>) 加三侧基(络合到 3 个 Fe<sup>IV</sup>) 模式络合的亲合力可以与络合到 6 个 Fe<sup>IV</sup> (μ<sub>6</sub>-N<sub>2</sub>) 的亲合力相比拟, 并在 Mo 周围形成单盖帽的 7 配位构型. 在活性中心结构参数相同的情况下, N<sub>2</sub> 分子直插的三种情形能量相差显著. 能量最有利的情形是 N<sub>2</sub> 分子单端基对准 Y 配体的状态. 显然, N≡N 若以直插方式进入 FeMo-co 中直径约为 4 Å 的空腔, 最可能的前驱性络合方式是直插 A 的方式. 这个结果支持了我们不久前提出的 Y(O=或 NH=) 可作为底物进出活窗口的假设<sup>[5]</sup>.

表 1 分子氮可能的络合活化方式的能量比较

络合方式	平躺 A	平躺 B	平躺 C
能量值 /eV	-2187.1895	-2187.0586	-2184.9919
络合方式	直插 A	直插 B	直插 C
能量值 /eV	-2191.8351	-2186.9778	-2184.2216

如单从能量上分析, N<sub>2</sub> 分子的直插式络合(A) 比平躺式要稍有利一些. 即使 N<sub>2</sub> 分子按平躺式 A 络合, 其能量仍然比直插式 A 的能量要高出 4 eV 以上. 之所以会出现直插式(A) 在能量上比平躺式有利, 可能是因为在 N<sub>2</sub>

分子直插式 A 的情况下, N<sub>2</sub> 分子与 6 个 Fe 采取多端基络合方式, 而在平躺式 A 的情况下, N<sub>2</sub> 的络合模式是单端基加三侧基; 且前者的空间因素亦较为有利, 因而在能量上要低一些.

b. 乙炔分子的络合活化模式

乙炔分子络合活化行为是否和分子氮相似呢? 计算结果表明, 对于乙炔分子, 不论是平躺式络合还是直插式络合在能量上都是不利的. 乙炔分子在腔内络合导致体系总能量高于 FeMo-co 模型与乙炔分子能量之和, 即络合能为负值. 乙炔分子较氮分子长, 直线型的乙炔分子长达 0.3325nm (适度活化的 C—C 键长 0.1207nm, C—H 键长 0.1059nm)<sup>[10]</sup>; 另外, 为了使乙炔分子的 C 与 Mo 成键, C—H 键的取向需发生变化, 键角—C≡C—H 由 180 度变为小于 180 度, 即氢原子要指向腔壁. 所以, 乙炔如采取腔内络合方式, 因空间位阻产生的排斥作用较大, 导致能量上不利. 但考虑到乙炔是 N<sub>2</sub> 分子酶促还原反应的竞争性抑制剂这一实验事实, 在 FeMo-co 结构发生变易的情况下, 乙炔分子在腔内络合的可能性尚不能完全排除.

参 考 文 献

- 1 Kim J, Rees D C. Science, 1992; 257: 1677
- 2 Chan M K, Kim J, Rees D C. Science, 1993; 260: 792
- 3 Kim J, Woo D, Rees D C. Biochemistry, 1993; 32 (28): 7104
- 4 Bolin J T, Ronco A E, Morgan T V et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90: 1078
- 5 刘爱民, 周泰锦, 万惠霖等. 高等学校化学学报, 1993; 14 (7): 996
- 6 Sellmann D. Angew Chem—Int Ed Engl, 1993; 32 (1): 64
- 7 周泰锦, 王南钦. 厦门大学学报(自然科学版), 1985; 24 (3): 345
- 8 Burgess B K. Chem Rev, 1990; 90 (8): 1377
- 9 Chen J. J Am Chem Soc, 1993; 115 (13): 5509
- 10 万惠霖, 蔡启瑞. 厦门大学学报(自然科学版), 1981; 20 (1): 62

suppressor gene p53 mutation in human esophageal cancer. It was found that there were point mutation, insertion and deletion frameshift mutation of p53 gene in human esophageal cancer. Intron 5 and 8 sequences of p53 gene in human and Rhesus monkey were sequenced and in monkey they are 81 and 92 nucleotides respectively.

**Key words** PCR, tumor suppressor gene, tumor

**Quantum Calculation for the Coordination Modes of Substrates Binding on Nitrogenase Active-Center.** Liu Aimin, Zhou Taijin, Zhang Hongtu, Wan Huilin, Cai Qirui (Tasi Khirui). (*Department of Chemistry and Institute of Physical Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; 21 (2): 171

EHMO studies of  $N_2$  and  $C_2H_2$  coordination-activation led to the conclusion that the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase might be able to give a special treat to its special substrate, i. e.  $N\equiv N$ . The exogenous substrates except  $N_2$  are apparently not to get into the cage of the active-center and/or to manoeuvre as freely as  $N\equiv N$  inside the cage with the proposed structural settings.

**Key words** nitrogenase, FeMo-cofactor, EHMO approach, coordination

**Measurement of Surface Charge Numbers of Purple Membrane.** Wang Guangyu, Hu Kunsheng, Zhang Hengtao. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; 21 (2): 173

The pH-dependent surface charge densities of the acetylated and the native purple membrane were determined by the ESR spin lable

method. The spin probe is  $CAT_{12}$ . The number of surface charges shielded by acetylation was adapted as a criterion to calculate the surface charge numbers on both sides of the purple membrane from surface pH 4—11. The result shows that the total surface negative charge numbers are 9 per bacteriorhodopsin at surface pH 5—9 but increases both above surface pH 9 and below surface pH 5. It supports strongly the model based on five divalent cation binding sites on the surface of purple membrane.

**Key words** purple membrane, bacteriorhodopsin, acetylation, ESR, surface charge number

**The Expression of p53, Rb and c-myc Gene mRNA in Human Primary Brain Tumor.** Tan Deyong, Lin Xi, Sun Zhilin. (*Department of Biochemistry West China University of Medical Science, Chengdu 610041*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; 21 (2): 175

21 human primary brain gliomas and 11 human meningiomas were examined with RNA dot blot hybridization for the expression of p53, Rb and c-myc gene. It was found that the level of p53 gene expression is lower in 48.4% (15/31) of the tumors tested than that of normal brain tissues; the level of Rb gene expression is lower in 21.9% (7/32) for the tumors tested than that of normal tissues; and the level of c-myc gene expression is higher in 71.9% (23/32) for the tumors tested than that of normal tissues. Interestingly, in 13 of the tumors tested, the level of p53 gene expression is lower and the level of c-myc gene expression is higher. These results suggested that the expressive decrease of p53 gene and the expressive increase of c-myc gene are relative to the generation of human primary brain tumor.